
9. BIBLIOGRAFIA.

9. BIBLIOGRAFIA.

Ameisen, J. C. (1998). Suicidio celular. *Investigación y Ciencia*. Tema 11, Biología del envejecimiento, 10-17.

Asami, K. and Yonezawa, T. (1995). Dielectric analysis of yeast cell growth. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1245: 99-105.

Austin, G. D., Watson, R. W. J. and D'Amore, T. (1994). Studies of on-line viable yeast biomass with a capacitance Biomass Monitor. *Biotechnology and Bioengineering*, 43: 337-341.

Baggetto, L. G. (1992). Deviant energetic metabolism of glycolytic cancer cells. *Biochimie*, 74: 959-974.

Bailey, J. E. (1991). Toward a science of metabolic engineering. *Science*, 252: 1668-1674.

Barnes, D. and Sato, G. (1980). Methods for growth of cultured cells in serum-free medium. *Analytical Biochemistry*, 102: 255-270.

Bebbington, C. and Hentschel, C. (1985). The expression of recombinant DNA products in mammalian cells. *Trends in Biotechnology* 3: 314-317.

Behrendt, U., Koch, S., Gooch, D. D., Steegmans, U. and Comer, M. J. (1994). Mass spectrometry: a tool for on-line monitoring of animal cell cultures. *Cytotechnology*, 14: 157-165.

Berman, P. W. and Lasky, L. A. (1985). Engineering glycoproteins for use as pharmaceuticals. *Trends in Biotechnology*, 3: 51.

Bibila, T. A., Ranucci, C. S., Glazomitsky, K., Buckland, B. C. and Aunins, J.G. (1994). Monoclonal antibody process development using medium concentrates. *Biotechnology Progress*, 10: 87-96.

Bibila, T. A. and Robinson, D. K. (1995). In pursuit of the optimal fed-batch process for monoclonal antibody production. *Biotechnology Progress*, 11: 1-13.

- Bittner, C., Wehnert, G. and Scheper, T. (1998). In situ microscopy for on-line determination of biomass. *Biotechnology and Bioengineering*, 60: 24-35.
- Blute, T., Gilles, T. and Dale, B. (1988). Cell density measurements in hollow fiber bioreactors. *Biotechnology Progress*, 4: 202-209.
- Bolk, W. T. (1985). A general linearising method for transducers. *Journal of Physics E. Science and Instrumentation*, 18: 61-64.
- Bousquet, I. et Sarthou, P. (1995). Un suicide sous contrôle. *Biofutur*: 15-22, Juillet-Août.
- Bragós, R. (1997). Contribució a la caracterització de teixits i sistemes biològics mitjançant tècniques d'espectroscòpia d'impedància elèctrica. *Tesi doctoral de la UPC*.
- Bragós, R., Povill, R. and Riu, P. J. (1994). Applicability of the three coefficient calibration technique to EIT. Abstracts of *CAIT Conference, Ankara*, pp. 43-44.
- Bragós, R., Yañez, A., Riu, P. J., Tresànceh, M., Warren, M., Carreño, A. y Cinca, J. (1996). Espectro de la impedancia del miocardio porcino in situ durante la isquemia. Parte I : Sistema de medida. *XIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*: 97-99.
- Büntemeyer, H., Marzahl, R. and Lehmann, J. (1994). A direct computer control concept for mammalian cell fermentation process. *Cytotechnology*, 15: 271-279.
- Butler, J. E., Feldbush, T. L., McGivern, P. L. and Stewart N. (1978). The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA): a measure of antibody concentration or affinity?. *Immunochemistry*, 15: 131-136.
- Campmajó, C., Cairó, J. J., Sanfeliu, A., Martínez, E., Alegret, S. and Gòdia, F. (1994). Determination of ammonium and L-glutamine in hybridoma cell cultures by sequential flow injection analysis. *Cytotechnology*, 14: 177-182.
- Casablancas, A. (2000). Optimització del consum de nutrients i generació de subproductes en cultius *in vitro* de cèl·lules animals. *Tesi doctoral de la UAB*.
- Chalmers, J. J. (1994). Cells and bubbles in sparged bioreactors. *Cytotechnology*, 15: 311-320.

- Chuppa, S., Tsai, Y.-S., Yoon, S., Shackelford, S., Rozales, C., Bhat, R., Tsay, G., Matanguihan, C., Konstantinov, K. B. and Naveh, D. (1997). Fermentor temperature as a tool for control of high-density perfusion cultures of mammalian cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 55: 328-338.
- Clark, M. R. (1986). Medical applications of monoclonal antibodies. *Cell Biology Reviews*, 9: 3-44.
- Cole, K. S. and Cole R. H. (1941). Dispersion and absorption in dielectrics, I. Alternating current characteristics. *Journal of Chemical Physics*, 9: 341-351.
- Cotter, T. G. and Al-Rubeai, M. (1995). Cell death (apoptosis) in cell culture systems. *Trends in Biotechnology*, 13: 150-155.
- Davey, C. L., Davey, H. M. and Kell, D. B. (1992). On the dielectric properties of cell suspensions at high volume fractions. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 28: 319-340.
- De la Broise, D., Noiseaux, M., Massie, B. and Lemieux, R. (1992). Hybridoma perfusion systems: a comparison study. *Biotechnology and Bioengineering*, 40: 25-32.
- De Tremblay, M., Perrier, M., Chavarie, C. and Archambault, J. (1992). Optimization of fed-batch culture of hybridoma cells using dynamic programming: single and multi feed cases. *Bioprocess Engineering*, 7: 229-234.
- De Tremblay, M., Perrier, M., Chavarie, C. and Archambault, J. (1993). Fed-batch culture of hybridoma cells: comparison of optimal control approach and closed loop strategies. *Bioprocess Engineering*, 9: 13-21.
- Dickson, A. J. (1998). Apoptosis regulation and its applications to biotechnology. *Trends in Biotechnology*, 16: 339-342.
- Dodge, T. C. and Hu W.-S. (1986). Growth of hybridoma cells under different agitation conditions. *Biotechnol Letters*, 8: 683-686.
- Dodge, T. C., Ji, G.-Y. and Hu, W.-S. (1987). Loss of viability of hybridoma cell culture: A kinetic study. *Enzyme and Microbial Technology*, 9: 607-612.

- Dorresteyn, R. C., Harbrink, K. N., Gooljer, C. D., Tramper, J. and Beuvery, E. C. (1996). On-line estimation of the biomass activity during animal-cell cultivations. *Biotechnology and Bioengineering*, 50: 206-214.
- Duval, D., Demangel, C., Munier-Jolain, K., Miossec, S. and Geahel, I. (1991). Factors controlling cell proliferation and antibody production in mouse hybridoma cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 38: 561-570.
- Emery, A. N., Jan, D. C.-H. and Al-Rubeai, M. (1995). Oxygenation of intensive cell-culture system. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43: 1028-1033.
- Eyer, K., Oeggerli, A. and Heinzle, E. (1995). On-line gas analysis in animal cell cultivation: II. Methods for oxygen uptake rate estimation and its application to controlled feeding of glutamine. *Biotechnology and Bioengineering*, 45: 54-62.
- Eyer, K. and Heinzle, E. (1996). On-line estimation of viable cells in a hybridoma culture at various DO levels using ATP balancing and redox potential measurement. *Biotechnology and Bioengineering*, 49: 277-283.
- Fehrenbach, R., Comberbach, M. and Pêtre, J. O. (1992). On-line biomass monitoring by capacitance measurement. *Journal of Biotechnology*, 23: 303-314.
- Fitzpatrick, L., Jenkins, H. A. and Butler M. (1993). Glucose and glutamine metabolism of a B-lymphocyte hybridoma grown in batch culture. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 43: 93-116.
- Foster, K. R. and Schwan, H .P. (1989). Dielectric properties of tissues and biological materials: a critical review. *CRC Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 17: 25-104.
- Freshney, R. I. (1989). Animal cell culture: a practical approach. IRL Press, Oxford, Washington DC.
- Freshney, R. I. (1994). Culture of animal cells: a manual of basic technique. Wiley-Liss, Inc., New York.
- Fridman, W. H. (1991). L'immunothérapie des cancers. *La Recherche Medicines*, 237: 46-53.
- Fu, P. and Barford, J. P. (1994). Methods and strategies available for the process control and optimization of monoclonal antibody production. *Cytotechnology*, 14: 219-232.

Fussenegger, M. and Bailey, J. E. (1998). Molecular regulation of cell-cycle progression and apoptosis in mammalian cells: implications for biotechnology. *Biotechnology Progress*, 14: 807-833.

Gersing, E. (1991). Measurement of electrical impedance in organs-measuring equipment for research and clinical applications. *Biomedizinische Technik*, 36: 6-11.

Glacken, M. W., Fleischaker, R. J. and Sinskey, A. J. (1986). Reduction of waste product excretion via nutrient control: possible strategies for maximizing product and cell yields on serum in cultures of mammalian cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 28: 1376-1389.

Glassy, M. C., Tharakan, J. P. and Chau, P. C. (1988). Serum-free media in hybridoma culture and monoclonal antibody production. *Biotechnology and Bioengineering*, 32: 1015-1028.

Graf, H. and Schügerl, K. (1991). Some aspects of hybridoma cell cultivation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 35: 165-175.

Griffiths, J. B. (1992). Animal cell culture processes, batch or continuous?. *Journal of Biotechnology*, 22: 21-30.

Guan, Y., Evans, M. E. and Kemp, R. B. (1998). Specific heat flow rate: an on-line monitor and potential control variable of specific metabolic rate in animal cell culture that combines microcalorimetry with dielectric spectroscopy. *Biotechnology and Bioengineering*, 58: 464-477.

Harris, C. M. and Kell, D. B. (1983). The radio-frequency dielectric properties of yeast cells measured with a rapid, automated, frequency-domain dielectric spectrometer. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 11: 15-28.

Harris, C. M., Todd, R. W., Bungard, S. J., Lovitt, R. W., Morris J. G. and Kell, D. B. (1987). Dielectric permittivity of microbial suspensions at radio frequencies: a novel method for the real-time estimation of microbial biomass. *Enzyme and Microbial Technology*, 9: 181-186.

Higareda, A. E., Possani, L. D. and Ramirez, O. T. (1997). The use of culture redox potential and oxygen uptake rate for assessing glucose and glutamine depletion in hybridoma cultures. *Biotechnology and Bioengineering*, 56: 555-563.

Hu, W.-S. and Dodge, T. C. (1985). Cultivation of mammalian cells in bioreactors. *Biotechnology Progress*, 1: 209-215.

Jhonson, M., Lanthier, S., Massie B., Lefebvre, G. and Kamen, A. A. (1996). Use of Centritech Lab centrifuge for perfusion culture of hybridoma cells in protein free medium. *Biotechnology Progress*, 12: 855-864.

Jiao, A., Wensong, T. and Juntang, Y. (1997). On line estimation of oxygen uptake rate for insect cells growing in a modified spinner flask. *Biotechnology Techniques*, 11: 755-758.

Jo, E. C., Park, H. J., Park, J. M. and Kim, K. H. (1990). Balanced nutrient fortification enables high-density hybridoma cell culture in batch culture. *Biotechnology and Bioengineering*, 36: 717-722.

Jo, E. C., Kim, D. and Moon, H. M. (1993). Step-fortification of nutrients in mammalian cell culture. *Biotechnology and Bioengineering*, 42: 1218-1228.

Jorgensen, E. B., Casablanca, A., González. G. and Gòdia., F. (1997). On-line monitoring of glutamine and ammonium in mammalian-cell cultures. In: Carrondo, M. J. T., Griffiths, B. and Moreira, J. L. P. (eds.), *Animal Cell Technology: From Vaccines to Genetic Medicine*. Kluwer, Dordrecht, Netherlands, pp. 429-434.

Jorjani, P. and Ozturk, S.S. (1999). Effects of cell density and temperature on oxygen consumption rate for different mammalian cell lines. *Biotechnology and Bioengineering*, 64: 349-356.

Karube, I. and Sode, K. (1991). In: Wise, D. (ed.). *Bioinstrumentation and Biosensors*. Marcel Dekker, New York, pp. 1-18.

Kearns, M. J. (1990). Integrated design for mammalian cell culture. *Bio/Technology*, 8: 409-413.

Kell, D. B., Markx, G. H., Davey, C. L. and Todd, R. W. (1990). Real-time monitoring of cellular biomass: Methods and applications. *Trends in Analytical Chemistry*, 9: 190-194.

Kernighan, B. and Ritchie, D. (1978). *The C Programming Language*. Prentice Hall.

Kijlstra, J., Wegh, R. A. J. and van Leeuwen, H. P. (1994). Impedance spectroscopy of colloids. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 366: 37-42.

Kilburn, D. G., Fitzpatrick, P., Blake-Coleman, B. C., Clarke, D. J. and Griffiths, J. B. (1989). On-line monitoring of cell mass in mammalian cell cultures by acoustic densitometry. *Biotechnology and Bioengineering*, 33: 1379-1384.

Kirkwood, E. y Lewis, C.C. (1985). *Inmunología médica básica*. Interamericana, Madrid.

Köhler, G. and Milstein, C. (1975). Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 256: 495-497.

Kong, D., Gentz, R. and Zhang J. (1998). Development of a versatile computer integrated control system for bioprocess controls. *Cytotechnology*, 26: 227-236.

Kong, D., Cardak, S., Chen, M., Gentz, R. and Zhang J. (1999). High cell density and productivity culture of Chinese hamster ovary cells in a fluidized bioreactor. *Cytotechnology*, 29: 215-220.

Konstantinov, K. B., Pambayun, R., Matanguihan, R., Yoshida, T., Perusich, C. and Hu, W.-S. (1992). On-line monitoring of hybridoma cell growth using a laser turbidity sensor. *Biotechnology and Bioengineering*, 40: 1337-1342.

Konstantinov, K. B., Zhou, W., Golini, F. and Hu, W.-S. (1994a). Expert systems in the control of animal cell culture processes: Potentials, functions, and perspectives. *Cytotechnology*, 14: 233-246.

Konstantinov, K. B., Chuppa, S., Sajan, E., Tsai, Y., Yoon, S. and Golini, F. (1994b). Real-time biomass-concentration monitoring in animal-cell cultures. *Trends in Biotechnology*, 12: 324-333.

Konstantinov, K. B., Tsai, Y., Moles, D. and Matanguihan, R. (1996). Control of long-term perfusion Chinese hamster ovary cell culture by glucose auxostat. *Biotechnology Progress*, 12: 100-109.

Kurokawa, H., Park, Y. S., Lijima, S. and Kobayashi, T. (1994). Growth characteristics in fed-batch culture of hybridoma cells with control of glucose and glutamine concentrations. *Biotechnology and Bioengineering*, 44: 95-103.

Kussow, C. M., Zhou, W., Gryte, D. M. and Hu, W.-S. (1995). Monitoring of mammalian cell growth and virus production process using on-line oxygen uptake rate measurement. *Enzyme and Microbial Technology*, 17: 779-783.

Kyung, Y.-S., Peshwa, M. V., Gryte, D. M. and Hu, W.-S. (1994). High density culture of mammalian cells with dynamic perfusion based on on-line oxygen uptake rate measurements. *Cytotechnology*, 14: 183-190.

Laporte, T. L., Shevitz, J., Kim, Y. and Wang, S. S. (1995). Hybridoma perfusion system using a sedimentation device. *Biotechnology Techniques*, 9: 837-842.

Lavery, M. and Nienow, A. W. (1987). Oxygen transfer in animal cell culture medium. *Biotechnology and Bioengineering*, 30: 368-373.

Lenas, P., Kitade, T., Watanabe, H., Honda, H. and Kobayashi, T. (1997). Adaptive fuzzy control of nutrients concentration in fed-batch culture of mammalian cells. *Cytotechnology*, 25: 9-15.

Lovrecz, G. and Gray, P. (1994). Use of on-line gas analysis to monitor recombinant mammalian cell cultures. *Cytotechnology*, 14: 167-175.

Luan, Y. T., Mutharasan, R. and Magee, W. E. (1987). Strategies to extend longevity of hybridomas in culture and promote yield of monoclonal antibodies. *Biotechnology Letters*, 9: 691-696.

MacMichel, G., Armiger, W. B., Lee, J. F. and Mutharasan, R. (1987). On-line measurement of hybridoma growth by culture fluorescence. *Biotechnology Techniques*, 1: 213-218.

Mancuso, A., Fernandez, E. J., Blanch, H. W. and Clarck, D. S. (1990). A nuclear magnetic resonance technique for determining hybridoma cell concentration in hollow fiber bioreactors. *Bio/Technology*, 8: 1282-1285.

Markx, G. H., Davey, C. L. and Kell, D. B. (1991). The permittostat: a novel type of turbidostat. *Journal of General Microbiology*, 137: 735-743.

Martignoni, M. E. (1984). Baculovirus: an attractive biological alternative. A: Garner, W. Y. and Harvey, J., *Chemical and Biological Controls in Forestry*. American Chemical Society: 55-67.

Martin, S. J., Green, D. R. and Cotter, T. G. (1994). Dicing with death: dissecting the components of the apoptosis machinery. *Trends in Biochemical Sciences*, 19: 26-30.

- Maiorella, B., Dorin, G., Carion, A. and Harano, D. (1991). Crossflow filtration of animal cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 37: 121-126.
- Martinelle, K. and Häggström, L. (1993). Mechanisms of ammonia and ammonium ion toxicity in animal cells: transport across cell membranes. *Journal of Biotechnology*, 30: 339-350.
- Maruhashi, F., Murakami, S. and Baba, K. (1994). Automated monitoring of cell concentration and viability using an image analysis system. *Cytotechnology*, 15: 281-294.
- Matanguihan, R. M., Konstantinov, K. B. and Yoshida, T. (1994). Dielectric measurement to monitor the growth and the physiological states of biological cells. *Bioprocess Engineering*, 11: 213-222.
- Mercille, S. and Massie, B. (1994). Induction of apoptosis in nutrient-deprived cultures of hybridoma and myeloma cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 44: 1140-1154.
- Merten, O.-W. (1988). Batch production and growth kinetics of hybridomas. *Cytotechnology*, 1: 113-121.
- Miller, W. M., Blanch, H. W. and Wilke C. R. (1988). A kinetic analysis of hybridoma growth and metabolism in batch and continuous suspension culture; effect of nutrient concentration, dilution rate and pH. *Biotechnology and Bioengineering*, 32: 947-965.
- Milstein, C. (1980). Anticuerpos momoclonales. *Investigación y Ciencia*, diciembre: 100-164.
- Mishima, K., Mimura, A., Takahara, Y., Asami, K. and Hanai, T. (1991a). On-line monitoring of cell concentrations by dielectric measurements. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 72: 291-295.
- Mishima, K., Mimura, A. and Takahara, Y. (1991b). On-line monitoring of cell concentrations during yeast cultivation by dielectric measurements. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 72: 296-299.
- Murhammer, D. W. and Goochee, C. F. (1990). Sparged animal cell bioreactors: mechanism of cell damage and pluronic F-68 protection. *Biotechnology Progress*, 6: 391-397.

Nellen, U. R. (1992). The ELISA test: a universal procedure for the identification of antigens on the basis of biotechnologically produced monoclonal antibodies information and school experiment. *Biotechnology Education*, 3: 107-112.

Oh, G.-S., Izuishi, T., Inoue, T., Hu, W.-S. and Yoshida, T. (1996). Interactive dual control of glucose and glutamine feeding in hybridoma cultivation. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 81: 329-336.

Olsson, L. and Nielsen, J. (1997). On-line and in situ monitoring of biomass in submerged cultivations. *Trends in Biotechnology*, 15: 517-22.

Ozturk, S. S. and Palsson, B. O. (1991a). Growth, metabolic, and antibody production kinetics of hybridoma cell culture: 1. Analysis of data from controlled batch reactors. *Biotechnology Progress*, 7: 471-480.

Ozturk, S. S. and Palsson, B. O. (1991b). Growth, metabolic, and antibody production kinetics of hybridoma cell culture: 2. Effects of serum concentration, dissolved oxygen concentration and medium pH in a batch reactor. *Biotechnology Progress*, 7: 481-494.

Ozturk, S. S., Riley, M. R. and Palsson, B. O. (1992). Effects of ammonia and lactate on hybridoma growth, metabolism, and antibody production. *Biotechnology and Bioengineering*, 39: 418-431.

Ozturk, S. S. (1996). Engineering challenges in high density cell culture systems. *Cytotechnology*, 22: 3-16.

Ozturk, S. S., Thrift, J. C., Blackie, J. D., and Naveh, D. (1997a). Real-time monitoring and control of glucose and lactate concentrations in a mammalian cell perfusion reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 53: 372-378.

Ozturk, S. S., Blackie, J., Wu, P., Taticek, R., Konstantinov, K. B., Matanguihan, C., Tsai, Y., Yoon, S., Thrift, J. and Naveh, D. (1997b). On-line monitoring for consistent and optimal production of biologicals from mammalian cell cultures. In: Carrondo, M. J. T., Griffiths, B. and Moreira, J. L. P. (eds.). *Animal Cell Technology: From Vaccines to Genetic Medicine*. Kluwer, Dordrecht, Netherlands, pp. 205-214.

Paredes, C. (1998). Anàlisi i redistribució dels fluxos metabòlics en cèl·lules animals. *Tesi doctoral de la UAB*.

Paredes, C., Prats, E., Cairó, J. J., Azorín, F., Cornudella, Ll. and Gòdia, F. (1999). Modification of glucose and glutamine metabolism in hybridoma cells through metabolic engineering. *Cytotechnology*, 30: 85-93.

Pelletier, F., Fonteix, C., Da Silva, A., Marc, A. and Engasser J.-M. (1994). Software sensors for the monitoring of perfusion cultures: Evaluation of the hybridoma density and the medium composition from glucose concentration measurements. *Cytotechnology*, 15: 291-299.

PhRMA, Pharmaceutical Research and Manufacturers of America. Survey: New medicines in development. *Biotechnology*. www.pharma.org/serchores/newneeds/biotech/bio00.pdf (2000).

Ramírez, O. T. and Mutharasan, R. (1990). Cell cycle-and growth phase-dependent variations in size distribution, antibody productivity, and oxygen demand in hybridoma cultures. *Biotechnology and Bioengineering*, 36: 839-848.

Reinecke, M. and Scheper, T. (1997). Fast on-line flow injection analysis system for IgG monitoring in bioprocesses. *Journal of Biotechnology*, 59: 145-153.

Reuveny, S., Velez, D., Miller, L. and Macmillan, J. D. (1986). Comparison of cell propagation methods for their effect on monoclonal antibody yield in fermentors. *Journal of Immunology Methods*, 86: 61-69.

Rosell, J., Viscasillas, J., Riu, P. J., Pallàs, R., Murphy, D. y Rolfe, P. (1988). Tomografía de impedancia eléctrica. *Mundo Electrónico*, 187: 132-187.

Sanfeliu, A. (1995). Producció d'anticossos monoclonals mitjançant el cultiu *in vitro* d'hibridomes en bioreactors: anàlisi de la fisiologia i metabolisme cel·lulars. *Tesi doctoral de la UAB*.

Sanfeliu, A., Paredes, C., Cairó, J. J. and Gòdia, F. (1997). Identification of key patterns in the metabolism of hybridoma cells in culture. *Enzyme and Microbial Technology*, 21: 421-428.

Schulze, B., Middendorf, C., Reinecke, M., Scheper, T., Noe, W. and Howaldt, M. (1994). Automated immunoanalysis systems for monitoring mammalian cell cultivation process. *Cytotechnology*, 15: 259-269.

Seamans, T. G. and Hu W.-S. (1990). Kinetics of growth and antibody production by a hybridoma cell line in a perfusion culture. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 70: 241-245.

Shahar, A., Reuveny, S., David, A., Budu, C. and Shainberg, A. (1994). Cerebral neurons, skeletal myoblasts, and cardiac muscle cells cultured on macroporous beads. *Biotechnology and Bioengineering*, 43: 826-831.

Shi, Y., Ryu, D. Y. and Park, S. H. (1992). Performance of mammalian cell culture bioreactor with a new impeller design. *Biotechnology and Bioengineering*, 40: 260-270.

Shinmoto, H. and Dosako, S. (1993). Adaptation of a mouse-human hybridomas to a protein free medium. *Biotechnology Letters*, 15: 327-330

Shintani, Y., Iwamoto, K. and Kitano, K. (1988). Polyethylene glycols for promoting the growth of mammalian cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 27: 533-537.

Shirai, Y. and Hashimoto, K. (1989). Production of monoclonal antibody by hybridoma cells entapped by alginate gel in a medium containing divalent cations and Glucose-1-Phosphate. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 68: 264-268.

Siano, A. and Mutharasan, R. (1991). NADH fluorescence and oxygen uptake responses of hybridoma cultures to substrate pulse and step changes. *Biotechnology and Bioengineering*, 37: 141-159.

Singh, R. P., Al-Rubeai, M., Gregory, C. D. and Emery, A. N. (1994). Cell death in bioreactors: A role for apoptosis. *Biotechnology and Bioengineering*, 44: 720-726.

Singh, V. (1996). On-line measurement of oxygen uptake in cell culture using the dynamic method. *Biotechnology and Bioengineering*, 52: 443-448.

Stephanopoulos, G. (1984). Chemical process control, an introduction to theory and practice. Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey.

Tintó, A. (1999). Millora de cultius *in vitro* d'hibridomes mitjançant el desenvolupament d'un sistema de perfusió i la inhibició de la mort cel·lular programada. *Tesi doctoral de la UAB*.

Tramper, J. J., Williams, J. B. and Joustra, D. J. (1986). Shear sensitivity of insect cells in suspension. *Enzyme and Microbial Technology*, 8: 33-36.

Trampler, F., Sonderhoff, S. A., Pui, P. W., Kilburn, D. G. and Piret J. M. (1994). Acoustic cell filter for high density perfusion culture of hybridoma cells. *Bio/Technology*, 12: 281-284.

Van't Riet, K. (1979). Review of measuring methods and results in nonviscous gas-liquid mass transfer in stirred vessels. *Industrial Engineering Chemical Process Design and Development*, 18: 358-363.

Wang, G., Zhang, W., Jacklin, C., Freedman, D., Eppstein, L. and Kadouri, A. (1992). Modified Celligen-packed bed bioreactors for hybridoma cell cultures. *Cytotechnology*, 9: 41-49.

Wang, J., Honda, H., Lenas, P., Watanabe, H. and Kobayashi, T. (1995). Effective tPA production by BHK cells in nutrients-controlled culture using an on-line HPLC measuring system. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80: 107-110.

Werner, R. G., Walz, F., Noe, W. and Konrad, A. (1992). A safety and economic aspects of continuous mammalian cell culture. *Journal of Biotechnology*, 22: 51-68.

Werner, R. G. and Noé, W. (1993). Mammalian cell cultures. Part I: Characterization, morphology and metabolism. *Arzneimittel Forschung Drug research*, 43: 1134-1139.

Werner, R. G. (1993). Successful products and future business prospects. In: Spier, R. E., Griffiths, J. B. and Berthold, W. (eds.). *Animal Cell Technology: Products of Today, Prospects for Tomorrow*. Butterworth-Heinemann. Oxford, United Kingdom, pp. 573-579.

Werner, R. G. (1998). Innovative and economic potential of mammalian cell culture. *Arzneimittel Forschung Drug research*, 48: 423-426.

Woodside, S. M., Bowen, B. D. and Piret, J. M. (1998). Mammalian cell retention devices for stirred perfusion bioreactors. *Cytotechnology*, 28: 163-175.

Wu, P., Ozturk, S. S., Blackie, J. D., Thrift, J. C., Figueroa, C. and Naveh, D. (1995). Evaluation and applications of optical cell density probes in mammalian cell bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 45: 495-502.

Xie, L. and Wang D. I. C. (1994). Fed-batch cultivation of animal cells using different medium design concepts and feeding strategies. *Biotechnology and Bioengineering*, 43: 1175-1189.

Xie, L. and Wang D. I. C. (1996). High cell density and high monoclonal antibody production through medium design and rational control in bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 51: 725-729.

- Xie, L. and Wang D. I. C. (1997). Integrated approaches to the design of media and feeding strategies for fed-batch cultures of animal cells. *Trends in Biotechnology*, 15: 109-113.
- Yabannavar, V. M., Singh, V. and Connelly, N. V. (1994). Scale-up of spin filter perfusion bioreactor for mammalian cell retention. *Biotechnology and Bioengineering*, 43: 159-164.
- Yang, Y.-D., Angelillo, Y., Chaudhry, M., Goldenberg, C. and Goldenberg, D. M. (2000). Achievement of high cell density and high antibody productivity by controlled-fed perfusion bioreactor process. *Biotechnology and Bioengineering*, 69: 74-82.
- Yoon, S. and Konstantinov, K. B. (1994). Continuous, real-time monitoring of the oxygen uptake rate (OUR) in animal cell bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 44: 983-990.
- Yuan, J. (1995). Molecular control of life and death. *Current Opinion in Cell Biology*, 7: 211-214.
- Zhang, S., Handa-Corrigan, A. and Spier, R. E. (1992). Oxygen transfer properties of bubbles in animal cell culture media. *Biotechnology and Bioengineering*, 40: 252-259.
- Zhang, S., Handa-Corrigan, A. and Spier, R. E. (1993). A comparison of oxygenation methods for high-density perfusion cultures of animal cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 41: 685-692.
- Zhang, S., Collins, A., Knyazev, I. and Gentz, R. (1998). High-density perfusion culture of insect cells with a Biosep ultrasonic filter. *Biotechnology and Bioengineering*, 59: 351-359.
- Zhou, W. and Hu, W.-S. (1994). On-line characterization of a hybridoma cell culture process. *Biotechnology and Bioengineering*, 44: 170-177.
- Zhou, W., Rehm, J. and Hu, W.-S. (1995). High viable cell concentration fed-batch cultures of hybridoma cells through on-line nutrient feeding. *Biotechnology and Bioengineering*, 46: 579-587.
- Zhou, W., Chen, C. C., Buckland, B. and Aunins, J. (1997). Fed-batch culture of recombinant NSO myeloma cells with high monoclonal antibody production. *Biotechnology and Bioengineering*, 55: 783-792.

10. NOMENCLATURA.

10. NOMENCLATURA.

A/D	Senyal de transmissió analògica/digital.
ADP	Adenosina 5'-difosfat.
AF	Alta freqüència.
AI	Amplificador d'instrumentació.
Ala	Alanina.
[Ala]	Concentració d'alanina al bioreactor, mM.
AlaP	Producció d'alanina acumulada, mM.
[Amm]	Concentració d'amoni al bioreactor, mM.
AmmP	Producció d'amoni acumulada, mM.
APR	Velocitat de producció del ATP, mmol/(l·h).
Arg	Arginina.
Asn	Asparragina.
Asp	Àcid aspartic.
ATP	Adenosina 5'-trifosfat.
B	Aeració per membrana de silicona
BF	Baixa freqüència.
BHK	Cèl·lules de <i>Baby Hamster Kidney</i> .
BSA	Albúmina.
C*	Concentració d'oxigen saturat en el medi de cultiu.
C	Capacitat elèctrica.
C ₀ , C ₁ i C ₂	Coefficients obtinguts a cada freqüència mitjançant la mesura de tres solucions salines de referència.
CC	Cultiu control realitzat amb medi DMEM estàndard.
[Cèl·lules/ml]	Concentració cel·lular comptada amb l'hemocitòmetre, cèl·lules/ml.
CER	Velocitat de producció del CO ₂ , mmol/(l·h).
CHO	Cèl·lules de <i>Chinese Hamster Ovary</i> .
C _m	Capacitat específica de la membrana, F/m ² .
CME	Cultiu realitzat amb medi exhaurit.
CMED	Cultiu realitzat amb medi exhaurit diluït amb PBS.
CMES	Cultiu realitzat amb medi exhaurit amb suplement nutricional.
CMRR	Refús al mode comú, dB.
C _{O₂} *	Concentració d'oxigen dissolt en equilibri en la fase gas, mM.
C _{O₂} (t)	Concentració d'oxigen dissolt en qualsevol temps, mM.
C _{O₂} (t _f)	Concentració d'oxigen dissolt per al temps final, mM.
C _{O₂} (t ₀)	Concentració d'oxigen dissolt per al temps inicial, mM.

Cp	Concentració del component estudiat, mM.
Cp ₀	Concentració inicial del component Cp a temps igual a zero, mM.
Cys	Cisteïna.
Cys-Cys	Cistina.
d	Dilució amb tripà de blau.
DCU	Unitat de control digital.
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium.</i>
DMSO	Dimetilsulfòxid.
DNA	Àcid desoxiribonucleic.
DO	Densitat òptica.
E ₂	Estimador de la densitat de biomassa, %.
EA	Senyal d'entrada Analògica.
EDTA	Àcid etilendiaminotetraacètic.
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay.</i>
EPDM	Elastòmer etilènic-propilènic.
EPO	Eritropoietina.
f _c	Freqüència central de relaxació, Hz.
F _{t, t'}	Cabal de la bomba d'alimentació fixat entre el temps actual i el pròxim temps de mostreig, l/h.
FCS	Sèrum fetal de vedella.
FIA	Anàlisi per injecció de flux.
FPM	Elastòmer de fluorocarbònic.
G	Conductància, S.
GC	Consum de glucosa acumulada, mM.
Glc	Glucosa.
[Glc]	Concentració de glucosa al bioreactor, mM.
Glc _{add,i}	Concentració de glucosa a addicionar pel sistema de control en la següent actuació, mM.
Glc _{add,i-1}	Concentració de glucosa addicionada pel sistema de control en l'anterior actuació, mM.
Glc _{aliment}	Composició de la glucosa en la solució d'addició, mM.
Glc _{cons,i}	Concentració de glucosa consumida en l'interval de temps anterior, mM.
Glc _{inicial}	Concentració de glucosa inicial al medi de cultiu, mM.
Glc _{off,j}	Concentració de glucosa en el reactor mesurada fora de línia en el temps actual, mM.
Glc _{off,j-1}	Concentració de glucosa en el reactor mesurada fora de línia en el temps anterior, mM.

Glc _{pred,i}	Concentració de glucosa consumida en el pròxim interval de temps, mM.
Glc _{r,i}	Concentració de glucosa al bioreactor en el temps actual, mM.
Glc _{r,i-1}	Concentració de glucosa al reactor en el temps anterior, mM.
Glc _{sortida}	Concentració de glucosa en el medi exhaurit de la perfusió, mM.
Glc _{sp}	Punt de consigna de la concentració de glucosa, mM.
Gln	Glutamina.
[Gln]	Concentració de glutamina al bioreactor, mM.
GlnC	Consum de glutamina acumulada, mM.
Gln _{inicial}	Concentració de glutamina inicial al medi de cultiu, mM.
Gln _{sortida}	Concentració de glutamina al medi exhaurit de la perfusió, mM.
Gln _{sp}	Punt de consigna de la concentració de glutamina, mM.
Glu	Àcid glutàmic.
Gly	Glicina.
H	Constant de la llei de Henry, mM.
HeLa	Cèl·lules extretes d'un tumor del coll de l'úter d'Henrietta Lacks.
HEPES	N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-3-propanesulfonic àcid.
His	Histidina.
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> .
HS	Aeració per l'espai de caps del reactor.
I	Mesura d'intensitat elèctrica, A.
(t)	Lectura de la sonda d'oxigen dissolt, %.
o	Valor inicial de l'oxigen dissolt, %.
ss	Valor de saturació de l'oxigen dissolt, %.
ICV	Integral de cèl·lules viables, cel-h/ml.
ICV _{i+1}	Integral de cèl·lules viables projectada des del temps actual fins a un temps futur, cel-h/ml.
ICV _{total}	Valor global de la integral de cèl·lules viables, cel-h/ml.
Ig	Immunoglobulina.
Ile	Isoleucina.
K _{des}	Coefficient volumètric de desorció de l'oxigen en el medi de cultiu, h ⁻¹ .
k _{La}	Coefficient volumètric de transferència de matèria per l'oxigen, h ⁻¹ .
Lac	Lactat.
[Lac]	Concentració de lactat al bioreactor, mM.
LED	Diode electroluminiscent (<i>Light emitting diode</i>).
Leu	Leucina.
LP	Producció de lactat acumulada.
LPR	Velocitat de la producció de lactat, mmol/(l·h).
Lys	Lisina.

m	Nombre de camps comptats a l'hemacitòmetre.
[Mab]	Concentració de producte en el bioreactor, $\mu\text{g/ml}$.
[Mab] _{final}	Concentració del producte al final del cultiu, $\mu\text{g/ml}$.
Mab _{Acumulat}	Concentració volumètrica acumulada de producte, $\mu\text{g/ml}$.
ME	Mescla d'esters.
Met	Metionina.
n_1, n_2	Valor del recompte de cèl·lules en un camp de l'hemacitòmetre.
N	Nombre de fibres buides en el mòdul de microfiltració.
NAD/NADH	Nicotinamida adenina dinucleòtid (forma oxidada/reduïda).
NL ₁	Sensor de nivell #1.
NL ₂	Sensor de nivell #2.
OC	Consum d'oxigen acumulat, mM.
OC _i	Consum d'oxigen acumulat entre el temps actual i l'anterior, mM.
OC _{i+1}	Consum d'oxigen acumulat entre el temps projectat i l'actual, mM.
OUR	Velocitat del consum d'oxigen, $\text{mmol}/(\text{l}\cdot\text{h})$.
OUR ₀	Velocitat del consum d'oxigen a temps inicial, $\text{mmol}/(\text{l}\cdot\text{h})$.
OUR _i	Velocitat del consum d'oxigen actual, $\text{mmol}/(\text{l}\cdot\text{h})$.
OUR _{i-1}	Velocitat del consum d'oxigen anterior, $\text{mmol}/(\text{l}\cdot\text{h})$.
OUR _{max}	Valor màxim de la velocitat del consum d'oxigen, $\text{mmol}/(\text{l}\cdot\text{h})$.
p. ex.	per exemple.
p/v	Relació entre pes i volum.
P	Fracció de volum cel·lular.
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i> .
PEI	Elastòmer de polieterimida.
PH	Variable del pH a la DCU del Biostat MCD.
Phe	Fenilalanina.
PO ₂	Variable del pO ₂ a la DCU del Biostat MCD, %.
pO ₂	Concentració de l'oxigen dissolt en la fase líquida, %.
Pro	Prolina.
\overline{Prod}	Valor mitjà de producte entre dos mostres consecutives, mM.
P _{vol}	Productivitat volumètrica, $\mu\text{g}/(\text{ml}\cdot\text{h})$.
\overline{P}_{vol}	Productivitat volumètrica mitjana, $\mu\text{g}/(\text{ml}\cdot\text{h})$.
pwm	Pols ample modulad.
Q	Cabal del líquid en el mòdul de microfiltració, ml/min.
Q _{add,i}	Valor actual del cabal de la bomba FE-211, ml/min.
q _{Ala}	Velocitat específica de la producció d'alanina, $\text{nmol}/(10^6 \text{ cel}\cdot\text{h})$.
q _{Amm}	Velocitat específica de la producció d'amoni, $\text{nmol}/(10^6 \text{ cel}\cdot\text{h})$.
q _{Cp}	Velocitat específica del consum o la producció del component Cp, $\text{nmol}/(10^6 \text{ cel}\cdot\text{h})$.

q_{Glc}	Velocitat específica del consum de glucosa, $\text{nmol}/(10^6 \text{ cel}\cdot\text{h})$.
q_{Gln}	Velocitat específica del consum de glutamina, $\text{nmol}/(10^6 \text{ cel}\cdot\text{h})$.
q_{Lac}	Velocitat específica de la producció de lactat, $\text{nmol}/(10^6 \text{ cel}\cdot\text{h})$.
q_{O_2}	Velocitat específica del consum d'oxigen, $\text{nmol}/(10^6 \text{ cel}\cdot\text{h})$.
$Q_p(t')$	Velocitat volumètrica de la formació de producte, $\text{mmol}/(\text{l}\cdot\text{h})$.
$Q_s(t')$	Velocitat volumètrica del consum de substrat, $\text{mmol}/(\text{l}\cdot\text{h})$.
$Q_{X,E2}$	Estimador cel·lular específic, $\% \cdot \text{l}\cdot\text{g}^{-1}$.
R	Valor d'impedància a alta freqüència, .
r	Coefficient de regressió lineal, adimensional.
R_0	Valor d'impedància a baixa freqüència, .
rc	Radi cel·lular, m.
r_{fb}	Radi intern de les fibres buides del mòdul de microfiltració, mm.
RNA	Àcid ribonucleic.
RQ	Quocient respiratori.
\overline{Subs}	Valor mitjà de substrat entre dos mostres consecutives, mM.
SAI	Sistema d'alimentació ininterrompuda.
SD	Senyal de sortida Digital.
Ser	Serina.
STIRR	Variable de la velocitat d'agitació a la DCU del Biostat MCD, rpm.
$Subs_f$	Concentració de substrat en el medi d'alimentació, mM.
SOUR	Velocitat específica del consum d'oxigen, $\text{nmol}/(10^6 \text{ cel}\cdot\text{h})$.
T	Temperatura, °C.
t	Temps, h.
$t_{0.63}$	Temps necessari per arribar al 63% de saturació d'aire començant des del 0% d'oxigen dissolt, s.
t_0	Temps inicial de registre de l'oxigen dissolt al 50%, h.
TAE	Tampó Tris-Acètic-EDTA.
t_{batch}	Durada del cultiu en discontinu, h.
TBE	Tampó Tris-Bòric-EDTA.
TCA	Cicle dels àcids tricarboxílics o cicle de Krebs.
TEA	Trietilamina.
TEMP	Variable de la temperatura a la DCU del Biostat MCD, °C.
t_f	Temps final de registre de l'oxigen dissolt al 30%, h.
THF	Tetrahidrofurà.
Thr	Treonina.
t_i	Temps actual, h.
t_{i+1}	Temps projectat, h.
t_{i-1}	Temps anterior, h.
TMB	Tetrametilbenzidina.

t_{OUR_i}	Temps que triga en confeccionar-se la seqüència d'anàlisi de l' OUR_i , h.
t-PA	Activador del plasminogen de teixits.
t_{pols}	Temps prefixat del pols, min.
TRIS	Tris[hidroximetil]- aminometà.
Trp	Triptòfan.
TTL	<i>Transistor-Transistor-Logic</i> .
Tyr	Tirosina.
v/v	Relació entre volums.
V	Mesura de voltatge, Volt.
$V_{add,i}$	Volum de solució d'aliment a addicionar, ml.
$V_{add,i-1}$	Volum de solució addicionada en l'anterior acció de control, ml.
Val	Valina.
V_{camp}	Volum de mostra present a cada camp de l'hemocitòmetre, ml.
V_{CO_2}	Volum de CO_2 addicionat, ml.
V_M	Velocitat mitja del fluid en el mòdul de microfiltració, m/s.
$V_{mostra,i-1}$	Volum de mostra extret per a l'anàlisi fora de línia, ml.
$V_{NaOH,i}$	Volum de solució de NaOH (200 mM) afegida durant un període determinat, ml.
V_{NaOH}	Volum de NaOH afegida, ml.
V_{perf}	Volum de l'operació en perfusió, ml.
$V_{r,i}$	Volum del bioreactor en el temps actual, ml.
$V_{r,i-1}$	Volum del bioreactor en el temps anterior, ml.
V_r	Volum constant del bioreactor, ml.
X	Concentració de cèl·lules viables, cèl·lules/ml.
X_0	Concentració inicial cel·lular a temps igual a zero, cèl·lules/ml.
X_{max}	Valor màxim de la concentració de cèl·lules viables, cèl·lules/ml.
X_{total}	Concentració de cèl·lules totals, cèl·lules/ml.
X_{viable}	Concentració de cèl·lules viables, cèl·lules/ml.
\bar{X}_i	Concentració mitjana de cèl·lules viables per a un interval de temps determinat, cèl·lules/ml.
$Y_{Ala/Gln}$	Rendiment alanina/glutamina, mmol/mmol.
$Y_{Amm/Gln}$	Rendiment amoni/glutamina, mmol/mmol.
$Y_{Glc/X}$	Rendiment glucosa/concentració cel·lular, mmol/ 10^6 cel.
$Y_{Gln/Glc}$	Rendiment glutamina/glucosa, mmol/mmol.
$Y_{Gln/X}$	Rendiment glutamina/concentració cel·lular, mmol/ 10^6 cel.
$Y_{Lac/Glc}$	Rendiment lactat/glucosa, mmol/mmol.
$Y_{O_2/Glc}$	Rendiment oxigen/glucosa, mmol/mmol.
$Y_{O_2/X}$	Rendiment oxigen/concentració cel·lular, mmol/ 10^6 cel.
Z	Impedància elèctrica, .

Z_c	Impedància corregida, .
Z_m	Impedància mesurada, .
$ Z(AF) $	Magnitud de la impedància a la freqüència $f \gg f_c$, .
$ Z(BF) $	Magnitud de la impedància a la freqüència $f \ll f_c$, .
	Dispersió de la mida i forma de la cèl·lula.
GC_j	Balanç de la glucosa consumida acumulada entre el temps actual de la mesura de glucosa fora de línia i el temps de la mesura anterior, mM.
Prod	Canvi pel producte entre el valor actual i el valor de la mostra anterior, mM.
Subs	Canvi pel substrat entre el valor actual i el valor de la mostra anterior, mM.
Δt_{i+1}	Interval de temps entre el temps projectat i el actual, h.
Δt_i	Interval de temps entre el temps el actual i l'anterior, h.
	Permitivitat, adimensional.
	Conductivitat, S/m.
e	Conductivitat extracel·lular, S/m.
i	Conductivitat intracel·lular, S/m.
	Resposta normalitzada de la sonda d'oxigen, adimensional.
μ	Velocitat específica de creixement, h^{-1} .
μ_i	Velocitat específica de creixement pel temps actual, h^{-1} .
$\bar{\mu}_i$	Velocitat específica de creixement mitjana pel temps actual, h^{-1} .
μ_{max}	Velocitat específica de creixement màxima, h^{-1} .
μ_{OUR}	Velocitat específica de creixement estimada a partir de les dades del consum d'oxigen, h^{-1} .
$\mu_{OUR, i}$	Velocitat específica de creixement estimada a partir de les dades del consum d'oxigen pel temps actual, h^{-1} .
p	Valor del temps de resposta del sensor d'oxigen, s^{-1} .
	Freqüència angular, Hz.
¥	Velocitat de cisallament (<i>shear rate</i>) per al mòdul de microfiltració, s^{-1} .

APÈNDIXS.

APÈNDIX A. EXEMPLES DE COMUNICACIÓ ENTRE L'ORDINADOR I LA DCU.

EXEMPLE #1.

Aquest exemple inicialitza la DCU per enviar un telegrama amb el bloc de dades del *Process Values* (PV). El telegrama resposta confirma la rebuda correcta de l'ordre.

Ordre enviada pel PC

*1:SU:0:0:PV:5:2:1030@

Resposta de la DCU-17 i DCU-15

#1:SU:0:17:636@

Per demanar els valors de PV s'ha de fer un telegrama amb l'ordre *Data Request* (DR). El telegrama resposta confirma la rebuda de l'ordre correctament al mateix temps que envia els valors del procés. El primer número és la variable monitorada i el segon és el valor d'aquesta variable. Aquest segon valor s'ha de convertir, amb codi de programació, en un valor intel·ligible per a l'usuari. A les taules A.1 i A.2 es descriuen els significats, per ambdós tipus de DCU disponibles al laboratori (DCU-17 i DCU-15), de les variables de procés (PV), i els guanys i les compensacions per convertir cadascun dels seus valors en valors comprensibles.

Posició	Variables PV	Compensació	Guany	Unitats
1	Temperatura	0	0.15	°C
2	Temperatura de camisa	0	0.15	°C
3	Velocitat d'agitació	0	2	rpm
4	% Motor de l'agitador	0	0.1	%
5	pH	2.0	0.01	upH
6	pO ₂	0	0.1	%
7	Consum d'àcid	0	1	ml
8	Consum de base	0	1	ml
9	Consum d'antiescumant	0	1	ml
10	Velocitat Bomba FE-211	0	0.1	%
11	Cabal d'aire	0	3·10 ⁻³	L/min
12	Potencial REDOX	0	1	mbar
13	Cabal de Gas1 (Aire/O ₂)	0	3·10 ⁻³	L/min
14	Cabal de Gas2 (N ₂)	0	3·10 ⁻³	L/min
15	pCO ₂	0	1	mbar
16	Volum recollit	0	1	ml
17	Volum alimentat	0	1	ml

Taula A.1. DCU-17: Significat de les variables PV, i els seus guanys i compensacions.

Ordre enviada pel PC

*1:DR:0:0:569@

Resposta de la DCU-17

#1:DR:0:17:PV:1:157.0:2:163.0:3:0.0:4:0.0:5:1368.0:6:1097.6:7:64.8:8:0.0:9:0.0:10:0.2:11:1.2:12:998.8:13:0.2:14:0.2:15:1389.9:16:0.0:17:0.0:7432@

Resposta de la DCU-15

#1:DR:0:17:PV:1:160.4:2:166.4:3:0.0:4:0.0:5:795.9:6:1.7:7:3.5:8:0.0:9:0.0:10:0.0:11:0.0:12:0.0:13:14.7:14:14.4:15:1000.0:6410@

Posició	Variables PV	Compensació	Guany	Unitats
1	Temperatura	0	0.15	°C
2	Temperatura de camisa	0	0.15	°C
3	Velocitat d'agitació	0	2	rpm
4	% Motor de l'agitador	0	0.1	%
5	pH	2.0	0.01	upH
6	pO ₂	0	0.1	%
7	Consum d'àcid	0	1	ml
8	Consum de base	0	1	ml
9	Consum d'antiescumant	0	1	ml
10	Velocitat Bomba FE-211	0	0.1	%
11	Volum recollit	0	1	ml
12	Volum alimentat	0	1	ml
13	Cabal de Gas1 (Aire/O ₂)	0	3·10 ⁻³	L/min
14	Cabal de Gas2 (N ₂)	0	3·10 ⁻³	L/min
15	pCO ₂	0	1	mbar

Taula A.2. DCU-15: Significat de les variables PV, i els seus guanys i compensacions.

EXEMPLE #2.

En aquest exemple s'inicialitza la DCU-17 per enviar un telegrama resposta amb el bloc de dades dels *Process Values* (PV) i de les consignes del control, *Control Set-points* (CS). El telegrama resposta confirma la rebuda correcta de l'ordre per la DCU-17.

Ordre enviada pel PC

*1:SU:0:0:PV/CS:5:2:1227@

Resposta de la DCU-17

#1:SU:0:17:636@

Quan es demanen els valors amb l'ordre *Data Request* (DR), el telegrama resposta confirma la seva rebuda correcta al mateix temps que envia valors del procés i del control. En CS, l'assignació és diferent que en PV. El primer número és la variable del controlador i el segon és el valor d'aquesta variable, es converteix però, amb els mateixos guanys i compensacions que els descrits pels valors de PV (Taula A.3 i Taula A.4).

Ordre enviada pel PC

*1:DR:0:0:569@

Resposta de la DCU-17

#1:DR:0:17:PV:1:156.3:2:162.9:3:0.0:4:0.0:5:1368.3:6:1096.4:7:143.9:8:0.0:9:0.0:10:0.2:11:1.2:12:998.8:13:0.2:14:0.2:15:1389.9:16:0.0:17:0.0:CS:1:246.7:2:30.0:3:500.0:4:600.0:5:600.0:6:0.0:7:0.0:8:231.6:9:1.0:10:0.0:11:333.3:12:400.0:12352@

Posició	Variabls CS/CM	Compensació	Guany	Unitats
1	Temperatura	0	0.15	°C
2	Velocitat d'agitació	0	2	rpm
3	pH	2.0	0.01	upH
4	pO ₂	0	0.1	%
5	pO ₂ Gas Flow	0	0.1	%
6	Nivell d'escumes	0	1/0	-
7	Bomba FE-211	0	0.1	%
8	Temperatura de camisa	0	0.15	°C
9	Gas Flow ^(a)	0	3·10 ⁻³	L/min
10	Nivell de líquid	0	1/0	-
11	Cabal d'aire	0	3·10 ⁻³	L/min
12	pO ₂ Gas Mix	0	0.1	%

Taula A.3. DCU-17: Significat de les variables CS i CM, i els seus guanys i compensacions. ^(a) Associat a la funció de control del controlador pO₂ Gas Flow.

Posició	Variabls CS/CM	Compensació	Guany	Unitats
1	Temperatura	0	0.15	°C
2	Velocitat d'agitació	0	2	rpm
3	pH	2.0	0.01	upH
4	pO ₂ Gas Mix	0	0.1	%
5	pO ₂ Gas Flow	0	0.1	%
6	Nivell d'escumes	0	1/0	-
7	Bomba FE-211	0	0.1	%
8	Temperatura de camisa	0	0.15	°C
9	Nivell de líquid	0	1/0	-
10	Gas Flow ^(a)	0	3·10 ⁻³	L/min

Taula A.4. DCU-15: Significat de les variables CS i CM, i els seus guanys i compensacions. ^(a) Associat a la funció de control del controlador pO₂ Gas Flow.

EXEMPLE #3.

Aquest exemple és un cas ampliat de l'exemple#2, ja que es demanen els valors del mode de control per a les mateixes variables de control. El segon valor defineix l'estat del controlador, *Control Mode* (CM), on el significat de 0 és *off*, 1 és *auto*, 2 és control en cascada, 3 és operació manual i 4 és perfil d'operació.

Ordre enviada pel PC

*1:SU:0:0:PV/CS/CM:5:2:1418@

Resposta de la DCU-17 i DCU-15

#1:SU:0:17:636@

En el cas de la DCU-17, el conjunt de dades demanades amb DR s'envien en dos telegrams. En el primer bloc, el número anterior a PV anuncia que s'envia una seqüència més de dades. L'*integer* 25 és la suma de D0, D4 i D5 ja que no caben en un de sol (veure pàgina 10 de la descripció del port sèrie entre l'ordinador i la DCU de Braun, (1996)). En el segon bloc s'envien totes aquelles dades que no s'han pogut enviar en el primer bloc ($D0 + D4 = 17$).

Ordre enviada pel PC

*1:DR:0:0:569@

Resposta de la DCU-17

#1:DR:0:25:PV:1:157.0:2:163.3:3:0.0:4:0.0:5:1368.0:6:1088.0:7:308.2:8:0.0:9:0.0:10:0.2:11:1.2:12:998.8:13:0.2:14:0.2:15:1389.9:16:0.0:17:0.0:CS:1:246.7:2:30.0:3:500.0:4:600.0:5:600.0:6:0.0:7:0.0:8:231.6:9:1.0:10:0.0:11:333.3:12:400.0:CM:1:0:12749@

#1:DR:0:17:CM:2:0:3:1:4:0:5:0:6:0:7:0:8:0:9:0:10:0:11:0:12:0:3347@

En canvi a la DCU-15, el conjunt de dades demanades amb DR s'envien en un sol telegrama.

Resposta de la DCU-15

#1:DR:0:17:PV:1:160.7:2:166.8:3:0.0:4:0.0:5:795.4:6:1.7:7:3.5:8:0.0:9:0.0:10:0.0:11:0.0:12:0.0:13:14.4:14:14.1:15:1000.0:CS:1:246.7:2:30.0:3:500.0:4:0.0:5:600.0:6:0.0:7:100.0:8:633.0:9:0.0:10:0.0:CM:1:0:2:0:3:0:4:0:5:0:6:0:7:0:8:0:9:0:10:0:12758@

EXEMPLE #4.

En aquest exemple es demostra com s'envien a la DCU ordres per canviar el punt de consigna dels diferents controladors. En primer lloc, com es canvia el valor del controlador de pH, que passa de 8.67 (666.6) a 7.0 (500), i el mode d'operació del controlador, que passa de *off* (0) a auto (1). El telegrama resposta confirma que l'ordre es realitza correctament.

Ordre enviada pel PC

*1:DS:0:0:CS:3:500:CM:3:1:1512@

Resposta de la DCU-17 i DCU-15

#1:DS:0:17:619@

En segon lloc, com es pot canviar l'estat de la DCU passant de mode local a mode remot.

Ordre enviada pel PC

*1:DS:0:0:BC:1:1:975@

Resposta de la DCU-17 i DCU-15

#1:DS:0:17:619@

APÈNDIX B. ARXIUS DE PROTOCOL PER A CADA ESTRATÈGIA DE CULTIU.

El primer arxiu de protocol que s'executa al començament i es carrega de forma automàtica en l'aplicació Sequen és l'arxiu INICI.TXT. Un cop s'ha executat les ordres que conformen aquest arxiu es carrega la seqüència d'ordres que es vol realitzar. Per a totes les estratègies de cultiu estudiades s'ha descrit un arxiu de protocol per poder executar de forma seqüencial les ordres específiques de cadascuna d'elles, és a dir, els arxius de protocol per a l'operació en discontinu, BATCH.TXT, l'operació en *fed-batch*, FEDBATCH.TXT, i l'operació en continu amb perfusió, PERFUSIO.TXT. A més d'aquests arxius, també es mostren aquells arxius funció que són cridats des del respectius arxius principals per realitzar els cicles de neteja de les bombolles de la superfície del sensor en el cas del discontinu i del *fed-batch*, BUBFREE.TXT, o per realitzar la neteja del mòdul de microfiltració en el cas de la perfusió, BACKFLUSH.TXT.

INICI.TXT

```
INI DCU
INI BIOMASSA
INI ELECTROVALVULA 0
INI ELECTROVALVULA 1
SET PATH C:\XAVIER\BATCH
END
```

BATCH.TXT

```
SET PATH C:\XAVIER\BATCH
SET RATE DCU -1
SET FILE DCU DCU000.DAT
SET RATE BIOMASSA -1
SET FILE BIOMASSA BIO000.DAT

DCU:DS:0:0:CS:1:246.667:2:30:3:502:11:150:12:600
DCU:DS:0:0:CM:1:1:2:1:3:1:6:0:11:1:12:1

DEFINE $N_REPEAT_1, $N_REPEAT_2;
$N_REPEAT_1 = 120;
$N_REPEAT_2 = 40;

DEFINE $T_ESPERA, $T_LOAD, $T_PURGA, $BIO_DELAY;
$T_ESPERA = 3.2;
$T_LOAD = 69;
$T_PURGA = 2;
$BIO_DELAY = 17.8;
```

```
DEFINE $LIMINF, $LIMCAL, $LIMSUP, $SAFE, $DCUSPEED;  
$LIMINF = 29.5;  
$LIMCAL = 30.0;  
$LIMSUP = 50.0;  
$KDES = 0.000130;  
$DCUSPEED = 1;
```

```
DEFINE $T_DEPRESS, $T_COMP, $KDES;  
$T_DEPRESS = 30;  
$T_COMP = 5;  
$SAFE = 150;
```

```
INC FILE DCU  
SET RATE DCU 20  
INC FILE BIOMASSA  
SET RATE BIOMASSA 5
```

```
REP $N_REPEAT_1
```

```
    ELECTROVALVULA 1:ON:1  
    DELAY $T_PURGA  
    ELECTROVALVULA 1:ON:0  
    REP $N_REPEAT_2  
        GOSUB FILE BUBFREE.TXT  
    END REP
```

```
        GOSUB OUR_On  
    END REP
```

```
DCU:DS:0:0:CM:1:0:2:0:3:0:6:0:11:1:12:0  
END
```

```
LABEL OUR_On
```

```
    $DCUSPEED = 1;  
    PROC CALCULA VARDCU
```

```
    SET RATE DCU 1  
    INC FILE DCU
```

```
    SET RATE BIOMASSA 1  
    INC FILE BIOMASSA
```

```
    DCU:DS:0:0:CS:12:1000:CM:3:0  
    DELAY $SAFE
```

```
    DCU:DS:0:0:CS:12:0  
    DELAY $T_DEPRESS
```

```
    ELECTROVALVULA 0:ON:1  
    WHILE $DCU_PV_pO2 > $LIMINF  
    DELAY $T_COMP  
    END WHILE  
    ELECTROVALVULA 0:ON:0  
    DCU:DS:0:0:CS:12:600:CM:3:1
```

```
    SET RATE DCU 000:00:20  
    SET RATE BIOMASSA 000:00:05  
    PROC CALCULA OUR
```

```
PROC CALCULA BIO
$DCUSPEED = 20;
PROC CALCULA VARDCU
```

```
RETURN
```

BUBFREE.TXT

```
#Provoca un cicle de neteja del sensor Aquasant
DCU:DS:0:0:CM:6:1
DELAY $T_LOAD
DCU:DS:0:0:CM:6:0

ELECTROVALVULA 1:ON:1
DELAY $T_ESPERA
ELECTROVALVULA 1:ON:0

DELAY $BIO_DELAY
END
```

FEDBATCH.TXT

```
SET PATH C:\XAVIER\FEDBATCH
SET RATE DCU -1
SET FILE DCU DCU000.DAT
SET RATE BIOMASSA -1
SET FILE BIOMASSA BIO000.DAT

DCU:DS:0:0:CS:1:246.667:2:30:3:502:7:0:11:150:12:600
DCU:DS:0:0:CM:1:1:2:1:3:1:6:0:7:0:11:1:12:1

DEFINE $N_REPEAT_1, $N_REPEAT_2;
$N_REPEAT_1 = 200;
$N_REPEAT_2 = 40;

DEFINE $T_ESPERA, $T_LOAD, $T_PURGA, $BIO_DELAY;
$T_ESPERA = 3.2;
$T_LOAD = 69;
$T_PURGA = 2;
$BIO_DELAY = 17.8;

DEFINE $LIMINF, $LIMCAL, $LIMSUP, $SAFE, $DCUSPEED;
$LIMINF = 29.5;
$LIMCAL = 30.0;
$LIMSUP = 50.0;
$KDES = 0.000115;
$DCUSPEED = 1;

DEFINE $T_DEPRESS, $T_COMP, $KDES;
$T_DEPRESS = 30;
$T_COMP = 5;
$SAFE = 150;

DEFINE $QGLC, $GLCFEED, $GLCADD, $YO2GLC, $GLCSP, $GLCR;
$YO2GLC = 0.36;
```



```
$GLCR = 2.5;
$GLCSP = 1.0;
$QGLC = 350;
$GLCFEED = 0.300;
$GLCADD = 0.0;

DEFINE $VR, $VADD, $VS;
$VR = 2000;
$VADD = 0;
$VS = 0;

DEFINE $UNI, $DEC, $XV0, $BIOPEND, $BIOORD;
$UNI = 0.6;
$DEC = 0.15;
$BIOORD = -880000;
$BIOPEND = 87000;
$XV0 = 0.25;

DEFINE $MU, $MUMAX, $MUMIN, $MUON, $SOUR;
$MU = 0.044;
$MUMAX = 0.065;
$MUMIN = 0.025;
#$MUON > NUM_VAL_MU = 3
$MUON = 4;

INC FILE DCU
SET RATE DCU 20
INC FILE BIOMASSA
SET RATE BIOMASSA 5

REP $N_REPEAT_1

    ELECTROVALVULA 1:ON:1
    DELAY $T_PURGA
    ELECTROVALVULA 1:ON:0
    REP $N_REPEAT_2
        GOSUB FILE BUBFREE.TXT
    END REP

    GOSUB OUR_On
END REP

DCU:DS:0:0:CM:1:0:2:0:3:0:6:0:7:0:11:1:12:0
END

LABEL OUR_On

    $DCUSPEED = 1;
    PROC CALCULA VARDCU

    SET RATE DCU 1
    INC FILE DCU

    SET RATE BIOMASSA 1
    INC FILE BIOMASSA

    DCU:DS:0:0:CS:12:1000:CM:3:0
    DELAY $SAFE
```

```
DCU:DS:0:0:CS:12:0
DELAY $T_DEPRESS

ELECTROVALVULA 0:ON:1
WHILE $DCU_PV_pO2 > $LIMINF
DELAY $T_COMP
END WHILE
ELECTROVALVULA 0:ON:0
DCU:DS:0:0:CS:12:600:CM:3:1

SET RATE DCU 000:00:20
SET RATE BIOMASSA 000:00:05
PROC CALCULA OUR
PROC CALCULA BIO
PROC CALCULA SOUR
PROC CALCULA VOL
PROC CALCULA GLC
PROC CALCULA ADD

$DCUSPEED = 20;
PROC CALCULA VARDCU
```

RETURN

PERFUSIO.TXT

```
SET PATH C:\XAVIER\PERFUSIO
SET RATE DCU -1
SET FILE DCU DCU000.DAT
SET RATE BIOMASSA -1
SET FILE BIOMASSA BIO000.DAT

DCU:DS:0:0:CS:1:246.667:2:30:3:502:5:600
DCU:DS:0:0:CM:1:1:2:1:3:1:6:1:7:1

DEFINE $N_REPEAT, $STEMPS;
$N_REPEAT = 500;
$STEMPS = 3600;

DEFINE $PO2MIN, $INIVAL, $OURON, $INCMIN, $PENDMIN, $CORRMIN;
$INCMIN = 0.0;
$PENDMIN = 0.0;
$CORRMIN = 0.0;
$PO2MIN = 57.0;
$INIVAL = 4;
$OURON = 1;

DEFINE $LIMINF, $LIMCAL, $LIMSUP, $KDES, $DCUSPEED;
$LIMINF = 29.5;
$LIMCAL = 30.0;
$LIMSUP = 50.0;
$KDES = 0.000130;
$DCUSPEED = 1;

DEFINE $T_DEPRESS, $T_COMP, $KDES;
$T_DEPRESS = 1;
$T_COMP = 2;
$SAFE = 30;
```

```
DEFINE $QGLC, $GLCFEED, $GLCSP, $SOUR, $QFEED, $SOURVAL;
$QGLC = 340;
$GLCFEED = 25;
$GLCSP = 8.0;
$SOUR = 110;
$QFEED = 0.0;
$SOURVAL = 2;

DEFINE $UNI, $DEC, $XV0, $BIOPEND, $BIOORD, $BIOGAIN, $BIONUM, $XV0;
$UNI = 0.6;
$DEC = 0.15;
$BIOORD = -520000;
$BIOPEND = 53000;
$XV0 = 1.2;
$BIOGAIN = 10;
$BIONUM = 10;

DEFINE $VR, $VS, $T_BACKFLUSH, $BACK_count;
$VR = 2000;
$VS = 0;
$T_BACKFLUSH = 120;
$BACK_count = 0;

DEFINE $MOURVAL, $MOUR, $MOURON;
$MOURVAL = 2;
$MOUR = 0.025;
$MOURON = 3;

DEFINE $MU, $MUVAL, $MUMAX, $MUMIN, $MUON;
$MUVAL = 2;
$MU = 0.028;
$MUMAX = 0.065;
$MUMIN = 0.015;
$MUON = 3;

INC FILE DCU
SET RATE DCU 20
INC FILE BIOMASSA
SET RATE BIOMASSA 120

DELAY 600
SET TIME 0

REP $N_REPEAT

    GOSUB OUR_On

    INC TIME $TEMPS
    GOSUB FILE BACK_flush.txt
    WAIT TIME

END REP

DCU:DS:0:0:CM:1:0:2:0:3:0:5:0:6:0:7:0
END

LABEL OUR_On

    $DCUSPEED = 1;
```

```
PROC CALCULA VARDCU

SET RATE DCU 1
INC FILE DCU

SET RATE BIOMASSA 1
INC FILE BIOMASSA

DCU:DS:0:0:CS:5:1000:CM:3:0
DELAY $SAFE

DCU:DS:0:0:CS:5:0
DELAY $T_DEPRESS

ELECTROVALVULA 0:ON:1
WHILE $DCU_PV_PO2 > $LIMINF
DELAY $T_COMP
END WHILE
ELECTROVALVULA 0:ON:0
DCU:DS:0:0:CS:5:600:CM:3:1:5:1

SET RATE DCU 000:00:20
SET RATE BIOMASSA 000:02:00
PROC CALCULA OUR
PROC CALCULA BIO
PROC CALCULA SOUR
PROC CALCULA VOL
PROC CALCULA ADD

$DCUSPEED = 20;
PROC CALCULA VARDCU

RETURN
```

BACK_flush.TXT

```
IF (($DCU_DI_LEVHI) && ($DCU_DI_FOAM))
    DCU:DS:0:0:CM:7:0
END IF

$BACK_count += 1;

IF($BACK_count == 4)
    INI BOMBA 0
    BOMBA 0:SENTIT:1
    BOMBA 0:SPEED:50
    BOMBA 0:STOP:0
    DCU:DS:0:0:CM:6:0

    DELAY $T_BACKFLUSH
    BOMBA 0:STOP:1
    DCU:DS:0:0:CM:6:1

    $VS = - ($T_BACKFLUSH/6);
    $BACK_count = 0;
END IF

RETURN
```

APÈNDIX C. CORBES DE CALIBRATGE DE LA CONCENTRACIÓ CEL·LULAR.

En els diferents cultius en *fed-batch* i en perfusió, el seguiment de la concentració cel·lular en línia s'ha realitzat mitjançant la sonda turbidimètrica Aquasant AF44. Per poder convertir les dades de terbolesa del medi de cultiu en un valor de concentració de cèl·lules viables o de cèl·lules totals, a continuació es mostren els diversos calibratges per a cada cultiu. Així doncs, per a cada experiment s'ha obtingut una relació entre el senyal turbidimètric i la concentració cel·lular. A la Figura C.1 es mostren les diferents relacions obtingudes per a cada cultiu.

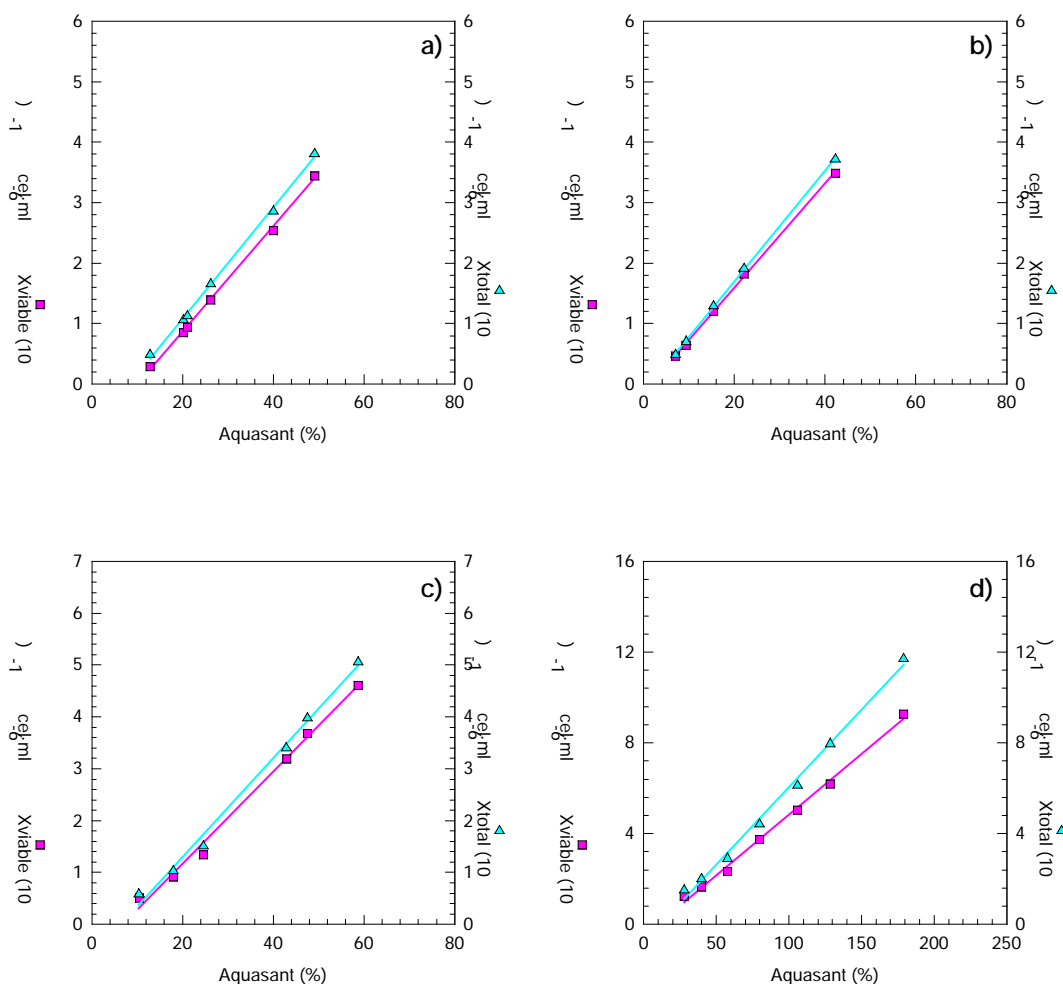


Figura C.1. Relació entre les lectures de la sonda d'Aquasant i la concentració cel·lular, tant de cèl·lules viables (X_{viable}) com de cèl·lules totals (X_{total}) per als cultius en *fed-batch* a) FB01, b), FB02, c) FB03, i d) per al continu amb perfusió.

La corba de calibratge té la forma $X_{viables} = \$BIOORD + \$BIOPEND \cdot \text{Aguasant} (\%)$ en unitats de 10^6 cèl·lules viables/ml, on els valors de l'ordenada a l'origen ($\$BIOORD$) i del pendent de la recta ($\$BIOPEND$) per a cada cultiu es mostren a la Taula C.1.

Cultiu cel·lular	$\$BIOORD$	$\$BIOPEND$	Regressió (r)
<i>Fed-batch</i> FB01	-0.880	0.087	0.9986
<i>Fed-batch</i> FB02	-0.135	0.086	0.9993
<i>Fed-batch</i> FB03	-0.615	0.089	0.9927
Perfusió ^(a)	-0.520	0.053	0.9960

Taula C.1. Valors dels pendents i ordenades a l'origen per a cada experiment realitzat en el bioreactor Biostat MCD. ^(a) Valor del pendent diferent als dels altres cultius ja que es tracta de cèl·lules provinents d'un nou cultiu ressembla.